

克
必
隆
系
列

CAT#:81201-20
常温运输和保存

TIANDZ

酵母电感受态细胞制备液

Yeast Electro Competent Cell Preparation Solution

使用手册 V1.2

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本酵母电感受态细胞制备试剂是一种通过化学处理酿酒酵母和裂殖酵母电感受态细胞，使之不但马上能用于电转化，还能长期放置后用于电转化。它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 操作简单，单溶液制备，除酵母培养的时间外，整个操作只需要 10 余分钟。 2. 制备得到的感受态细胞可以-80℃保存一年，方便多次使用，免去每次转化都要新鲜制备感受态细胞。 3. 主要用于酿酒酵母 <i>S. cerevisia</i> 和 <i>S. pombe</i>，但能否用于其他酵母（如 <i>C. albicans</i>、<i>Pichia pastoris</i> 等）不详。 4. 最高转化效率可达到 $0.2-1 \times 10^6$ 个转化子/ug 质粒 DNA。 5. 得到的感受态细胞可以用各种线性或环状酵母穿梭质粒 DNA 进行转化，例如 YIp, YRp, YCp, YEp 和 YAC 等。 6. 可以用于酵母双杂交、定点突变 (Site-Directed Mutagenesis)、基因破坏 (Gene Disruption)、等位突变基因修复 (Mutant Allele Recovery) 等实验。 7. 本试剂盒足够处理 200 mL 酵母菌液，制备 40 管酵母感受态细胞。 			
<p>规格及成分</p>		<p>成份</p>	<p>编号</p>	<p>20 次塑料袋包装</p>
		<p>酵母电感受态细胞制备液</p>	<p>81201</p>	<p>5 mL × 20</p>
		<p>使用手册</p>	<p>81201sc</p>	<p>1 份</p>
<p>自备试剂</p>	<p>灭菌水，SD 液体培养基（不含氨基酸的 0.67% Bacto Yeast Nitrogen Base, 2%葡萄糖），SD 固体培养基（在 SD 液体培养基中再加 2%琼脂），YPD 液体培养基（1% Bacto Yeast Extract, 2% Bacto Peptone, 2%葡萄糖），YPD 固体培养基（在 YPD 液体培养基中再加 2%琼脂）</p>			
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。</p>			
<p>使用方法</p>	<p>一：电感受态细胞的制备</p> <p>说明：按本方法制备 1 管酵母电感受态细胞就需要 OD600 达到 1.0 的新鲜酵母培养液 5 mL，用户需根据制备的酵母感受态细胞数量决定培养细胞的体积。下面操作只是以 10 mL 酵母为例说明。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 培养 <i>S.pombe</i> 细胞：挑取新鲜单菌落（4℃放置不超过 3 周的也可以），接种到 10 mL SD 液体培养基中。30℃摇晃培养，摇床速度 250rpm/分钟，直到 OD600 达到 1.0 左右（相当于 1×10^7 细胞/mL）。 2. 培养 <i>S.cerevisiae</i> 细胞：挑取新鲜单菌落（4℃放置不超过 3 周的也可以），接种到装在 10 mL YPD 液体培养基中。30℃摇晃培养，摇床速度 250rpm/ 			

	<p>分钟，直到 OD600 达到 1.0 左右（相当于 1×10^7 细胞/mL）。</p> <ol style="list-style-type: none"> 3. 冰上放置 15 分钟。 4. 室温 1600rpm 离心 5 min，弃上清。 5. 用冰浴的灭菌水洗涤 3 次。 6. 用 0.2 mL 冰浴的本产品重悬细胞。 7. 按每管 0.1 mL 分装到 1.5-2 mL 的冷冻管中，直接放入 -80℃ 冰箱待用。 <p>注意：不能放在液氮中，否则将丧失电转化能力。</p> <p>二：电转化酵母感受态细胞</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 将装有 0.1 mL 感受态细胞的冷冻管从冰箱取出的、放置在 30℃ 水浴中快速化冻（快速化冻的效果好于缓慢化冻）。 2. 用 1 mL 冰浴的本产品洗涤一次。 3. 加入 50 uL 冰浴的本产品重悬细胞。 4. 加入 1-30 ng 质粒 DNA 并轻柔混匀。 5. 转移到预冷的、距离为 0.2cm 的电击杯中。 6. 按电击仪的手册设置电击参数并进行电击处理，参考条件为：10kV/cm (对 0.2 cm 的电击杯，则为 2 kV), 5 ms (25 μF, 200Ω)（各厂家仪器的使用略有不同，请严格按电击仪厂家提供的手册进行操作）。 7. 电击后将细胞转移到 1 mL 预冷的本产品中，轻柔混匀。 8. 取 0.2 mL 转化细胞涂盘（<i>S.pombe</i> 细胞需涂盘在 SD 固体培养基上，<i>S.cerevisiae</i> 细胞需涂盘在 YPD 固体培养基上），30℃ 培养 4-6 天。
<p>关联产品</p>	<p>酵母化学感受态细胞制备试剂盒，裂殖酵母感受态细胞制备试剂盒。</p>